



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

62155284

PHYSIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCE K-252 DERIVATIVE

Patent Number: JP62155284

Publication date: 1987-07-10

Inventor(s): HIRATA TADASHI; others: 05

Applicant(s): KYOWA HAKKO KOGYO CO LTD

Application Number: JP19850295172 19851227

Priority Number(s):

IPC Classification: C07D498/22; A61K31/55

EC Classification:

Abstract

NEW MATERIAL: A compound expressed by formula I [R is H, lower alkyl, etc., Y is OR<1> (R<1> is H, aralkyl, etc., provided that R<1> is not H or methyl when R is H) or formula II (R<2> and R<3> are H, substituted phenyl, etc.)].

EXAMPLE: O-methyl ester derivative of K-252 expressed by formula IV.

USE: An protein kinase C inhibitor useful for preventing and treating diseases, allergy, tumor, etc., of cardiovascular systems.

PREPARATION: For example, K-252 expressed by formula III (RA is CH₃; RB is H) is hydrolyzed with an alkali, e.g. NaOH, in an equivalent amount of 1-1.5 times based on the K-252 in a solvent, e.g. methanol, etc., and the product is then reacted with an alkyl halide expressed by the formula RaX (Ra is lower alkyl or aralkyl; X is halogen) in an inert solvent, e.g. DMF, etc., to afford the aimed compound expressed by formula I (R is lower alkyl, aralkyl, etc.; R<1> is H).

BEST AVAILABLE COPY

B#5

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-155284

⑬ Int. Cl.⁴C 07 D 498/22
A 61 K 31/55

識別記号

AED
AEM

庁内整理番号

6664-4C

⑭ 公開 昭和62年(1987)7月10日

// (C 07 D 498/22
209:00
273:00
307:00)

審査請求 未請求 発明の数 1 (全10頁)

⑮ 発明の名称 生理活性物質K-252の誘導体

⑯ 特 願 昭60-295172

⑰ 出 願 昭60(1985)12月27日

| | | | |
|---------|------------|-----|---------------------|
| ⑱ 発 明 者 | 平 田 | 正 | 横浜市緑区奈良町1566-315 |
| ⑱ 発 明 者 | 高 橋 | 充 | 川崎市多摩区三田3-2-6-204 |
| ⑱ 発 明 者 | 村 形 | 力 | 町田市旭町3-6-6 研友寮 |
| ⑱ 発 明 者 | 加 瀬 | 廣 | 小金井市前原町3-35-18 |
| ⑱ 発 明 者 | 山 田 | 耕 二 | 町田市旭町1-12-2 |
| ⑱ 発 明 者 | 岩 橋 | 和 幸 | 国立市富士見台3-17番3-8-107 |
| ⑲ 出 願 人 | 協和醗酵工業株式会社 | | 東京都千代田区大手町1丁目6番1号 |

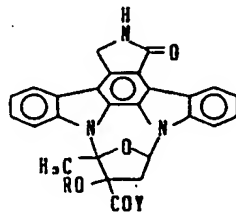
明 細 書

1. 発明の名称

生理活性物質K-252の誘導体

2. 特許請求の範囲

式



(式中、Rは水素、低級アルキル、アラルキル、またはアシルである。YはOR'(式中R'は水素、低級アルキルおよびアラルキルより選ばれる。ただし、Rが水素のときはR'は水素およびメチルではなく、RがアセチルのときはR'はメチルではない。)、または $\text{—N} \begin{matrix} \text{R}^2 \\ \text{R}^1 \end{matrix}$ (式中、R¹、R²は同一もしくは異なって水素、低級アルキル、ヒドロキシ置換低級アルキルまたは非置換もしくは置換フェニル(置換基はアミノ、ヒドロキシル、低級アルキル、低級アルコキシ、カルボキシル、ハロゲンおよびシアノより選ばれる)であるか、

R¹が水素でR²がヒドロキシルである。またはR¹、R²は一体となって $\text{—(CH}_2\text{)}_n\text{—}$ (式中、nは4、5もしくは6である)または $\text{—CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{—}$ を表す。)である。)で表されるK-252誘導体およびその塩。

3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明はプロテインキナーゼC(以下C-キナーゼと記載する)を阻害し、種々な薬理作用を有する新規化合物及びその製法に関する。

従来の技術

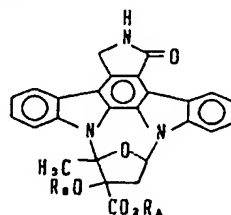
C-キナーゼはフォスホリピドおよびカルシウムに依存して活性化されるタンパク質リン酸化酵素であり、広く生体内の組織や臓器に分布している。近年、本酵素は多くのホルモンや神経伝達物質などの細胞膜受容伝達機構において、極めて重要な役割を果たしていることが知られるようになった。そのようなC-キナーゼが関与する情報伝達機構により惹起される生理的反応の例として、血小板におけるセロトニン放出、リソゾーム酵素遊離および凝集反応、肝中球のスーパーオキシド生成やリソゾーム酵素の遊離、副腎髄質からのエピネフリン遊離、腎糸球体からのアルドステロン分泌、ランゲルハンス島からのインシュリン分泌、

マスト細胞からのヒスタミン遊離、回腸からのアセチルコリン遊離、血管平滑筋の収縮等が報告されている。さらに、C-キナーゼは細胞増殖や発ガン機構にも関与していると考えられている〔参考文献：Y. Nishizuka, Science, 225, 1365 (1984) ; H. Rasmussen et al., Advance in Cyclic Nucleotide and Protein Phosphorylation Research, Vol. 18, P159, edited by P. Greengard and G. A. Robison, Raven Press, New York, 1984〕。このように本酵素は生体内の多くの重要な生理反応や各種病態に係わることが明らかになってきた。従って、C-キナーゼ活性をその特異的阻害剤等を用いることにより人為的に抑制することができれば、広く循環器系の疾病や、炎症、アレルギー、腫瘍などの予防、治療が可能になると考えられる。

一方、トリフルオベラジン、クロプロマジン等の抗精神病薬剤、局所麻酔薬として知られるジベナミンやテトラカイン、あるいはカルモジユリン阻害剤 W-7 (N-(6-aminoethyl)-5-chloro-1-naphthalenesulfonamide) 等の薬剤にC-キナーゼの抑制活性があることが見出されているが、いずれもそのC-キナーゼ抑制作用は各薬剤の主作用ではなく特異性は低く、また抑制活性も低い〔Y. Nishizuka et al., J. Biol. Chem.,

255, 8378 (1980) ; R. C. Schatzman et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 98, 669 (1981) ; B. C. Nise et al., J. Biol. Chem., 257, 8489 (1982)〕。

一方、次式で表される K-252, KT-5556 についての出願があり、K-252 についての出願はすでに公開されている (特開昭60-41489, 特開昭60-17531)。



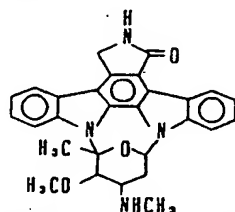
K-252 : $R_1 = CH_3$, $R_2 = H$

KT-5556 : $R_1 = H$, $R_2 = H$

特開昭60-41489にはK-252が抗ヒスタミン遊離作用、抗アレルギー作用を有することが記載されている。最近、K-252, KT-5556と同一化合物と推定される化合物が抗菌物質として報告された〔M. Senzaki et al., J. Antibiotics, 38 (10), 1437 (1985)〕。この文献には上式で $R_1 = CH_3$, $R_2 = Ac$ の化合物も開示されている。

さらにK-252の構造に比較的近い構造を有

する化合物として以下の構造を有し、抗菌作用を有するStaurosporine が知られている〔S. Omura et al., J. Antibiotics, 30 (4), 275 (1977), A. Furusaki et al., J. Chem. Soc. Chem. Commun., 800 (1981)〕。



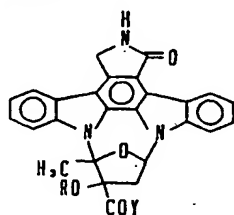
Staurosporine

発明が解決しようとする問題点

K-252, KT-5556もC-キナーゼ抑制活性を有するが、より優れたC-キナーゼ抑制活性を有する化合物を探索するべく、K-252誘導体を創成した。

問題点を解決するための手段

本発明は式〔I〕



〔I〕

(式中、Rは水素、低級アルキル、アラルキル、またはアシルである。YはOR' (式中R'は水素、低級アルキルおよびアラルキルより選ばれる。ただし、Rが水素のときはR'は水素およびメチルではなく、RがアセチルのときはR'はメチルで

はない。) または $-N \begin{matrix} / R^2 \\ \backslash R^3 \end{matrix}$ (式中、R², R³

は同一もしくは異なって水素、低級アルキル、ヒドロキシ置換低級アルキルまたは非置換もしくは置換フェニル (置換基はアミノ、ヒドロキシル、低級アルキル、低級アルコキシ、カルボキシル、ハロゲンおよびシアノより選ばれる) であるか、R²が水素でR³がヒドロキシである。またはR², R³は一体となって $-(CH_2)_n-$ (式中、nは4, 5もしくは6である) または $-CH_2CH_2OCH_2CH_2-$ を表す。) である。) で表されるK-252誘導体 (以下、化合物〔I〕という。他の式番号の化合物についても同様) およびその塩に関する。

化合物〔I〕およびその塩はC-キナーゼを強力に阻害するとともに、血小板凝集反応、マスト細胞からのヒスタミン遊離などC-キナーゼに係る生理活性反応を強く阻害する。

式〔I〕のRおよびR₁の定義中、低級アルキ

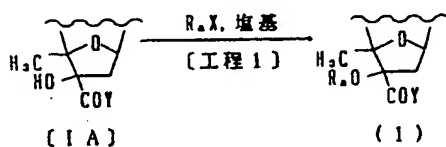
ルは炭素数1~6の直鎖もしくは分岐鎖のものを意味し、たとえばメチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、n-ブチル、n-ヘキシル等があげられる。RおよびR'の定義中、アラルキルはアリール部がフェニル、ナフチル、ビフェニル等で、アルキル部が炭素数1~3のものを意味し、好適なものとしてベンジルがあげられる。さらにRの定義中、アシルは炭素数1~4の直鎖もしくは分岐鎖のアルカノイル、たとえばアセチル、プロパノイル、n-ブチリル等、ベンゾイル等を意味する。

R² および R³ の定義中、低級アルキル(ヒドロキシ置換低級アルキルにいう低級アルキルの場合も同様)は炭素数1~4の直鎖もしくは分岐鎖のアルキルを意味し、メチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、n-ブチル、i-ブチル等があげられる。ヒドロキシ置換低級アルキルとしては2-ヒドロキシエチル等があげられる。R²、R³の定義に関し、置換フェニルの置換基中、低級アルキルは炭素数1~4の直鎖もしくは分岐鎖のアルキル、例えばメチル、エチル等、低級アルコキシは炭素数1~4の直鎖もしくは分岐鎖のアルコキシ、例えばメトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、n-ブトキシ等、ハロゲンは塩素、臭素

をK-252と同一の立体配置を有する光学活性体である。

次に化合物〔I〕の製造方法について説明する。

式〔I〕において、Rが低級アルキルまたはアラルキルである化合物(1)は次の工程により合成される。



(式中、R、は低級アルキルまたはアラルキルであり、Xはハロゲン、例えば塩素、臭素であり、Yは前記と同義である。)

〔工程1〕

式〔I〕においてRが水素である化合物〔IA〕とR a Xで表されるハライドとを不活性溶媒中、塩基の存在下反応させることにより化合物(1)を得ることができる。

ハライドは反応性に富むヨウ化物または臭化物が好ましく、化合物〔IA〕に対し通常1~2当量用いる。塩基は水素化ナトリウム、カリウムt-ブトキシド等を包含し、副反応を抑えるために化合物〔IA〕に対し1当量以内、特に0.9~1

等を意味する。

化合物〔I〕が酸性化合物である場合には塩基付加塩、塩基性化合物の場合には酸付加塩を形成させることができる。このような塩基付加塩として、アンモニウム塩、リチウム、ナトリウム、カリウム塩のようなアルカリ金属塩、カルシウム、マグネシウム塩のようなアルカリ土類金属塩、トリエチルアミン、モルホリン、ピペリジン、ジシクロヘキシルアミン等の有機塩基との塩、およびアルギニン、リジン等の塩基性アミノ酸との塩があげられる。化合物〔I〕の酸付加塩としては塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、ギ酸塩、酢酸塩、安息香酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、シュウ酸塩、メタンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩、アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩等があげられる。非毒性の薬理的に許容できる塩、例えば上記に列挙の塩基付加塩、酸付加塩が好ましいが、生成物の単離、精製にあたってはその他の塩もまた有用である。

化合物〔I〕において、CH₃ および RO が結合している2つの炭素原子は不斉炭素である。本発明による化合物は、光学活性であるK-252より、立体保持の反応で得られるものであり、全

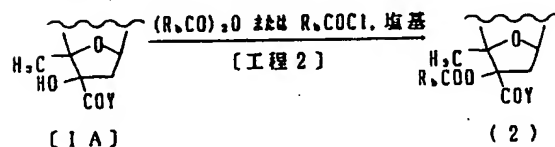
当量用いるのが好ましい。ただし、置換基Yに活性水素が含まれる場合には、それと対応する量の塩基を追加することが必要である。不活性溶媒としてはN、N-ジメチルホルムアミド(DMF)、テトラヒドロフラン(THF)等が用いられる。

反応は通常0℃~室温の範囲内で行われ、数時間~1日で終了する。

なお、化合物〔IA〕は既知物質(例えばK-252)であるが、又は後記工程3.4.6の工程によって製造される。

以下の工程でも同様であるが、生成物の単離・精製は通常の有機合成で用いられる方法、たとえば抽出、結晶化、クロマトグラフィー等を組み合わせることにより行うことができる。

式〔I〕において、Rがアシルである化合物(2)は、次の工程により合成される。

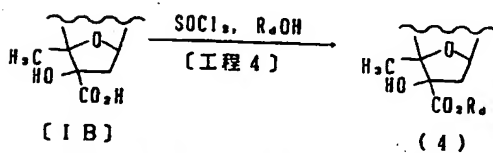


(式中、R.CO はアシル、Yは前記と同義である)

〔工程2〕

化合物〔I A〕と $(R, CO_2)_2O$ で表される酸無水物または $R, COCl$ で表される酸クロリドのようなアシル化試薬とを適当な溶媒中塩基存在下で反応させることにより、目的化合物(2)を得ることができる。塩基としては、ピリジン、N, N-ジメチルアミノピリジン、トリエチルアミン等が用いられる。アシル化試薬、塩基は化合物〔I A〕に対し、通常1.1~2当量用いられる。反応溶媒として、クロロホルム、ジクロロメタン等が用いられる。反応は通常0℃~室温の範囲内で行われ、15分~数時間で終了する。化合物〔I A〕の置換基Yに反応性官能基(たとえば水酸基、アミノ基等)を含む場合には、反応に先だちこれらの基を適当な保護基(たとえばベンジル基、ベンジルオキシカルボニル基等)で保護してからアシル化を行い、ついで保護基を除去(接触還元等)することが好ましい。

式〔I〕において、Rが低級アルキル、アラルキル又はアシルでYの定義中R'が水素の化合物(3)は、次の工程により合成される。

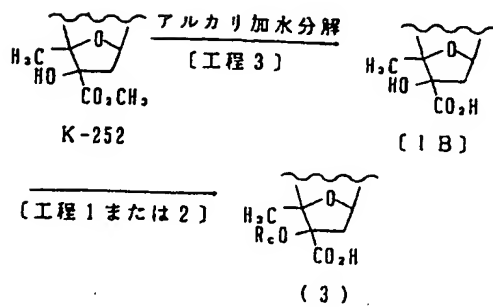


R: 低級アルキルまたはアラルキル

〔工程4〕

エステル体(4)は、化合物〔I B〕にアルコール R_2OH および過剰の塩化チオニルを加え、加熱還流することにより得ることができる。塩化チオニルは、溶媒をかねて用いるアルコールの10分の1程度(体積比)の量が通常用いられる。反応は80~100℃の範囲内で行われ、数時間~1日でほぼ終了する。

式〔I〕において、Rが低級アルキル、アラルキル又はアシルでYが $-N \begin{smallmatrix} /R^2 \\ \backslash R^2 \end{smallmatrix}$ (R^2 および R^2 は前記と同義である)である化合物(6)は、次の工程により合成される。

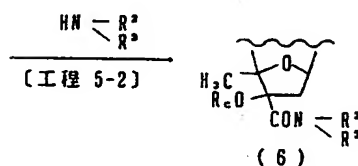
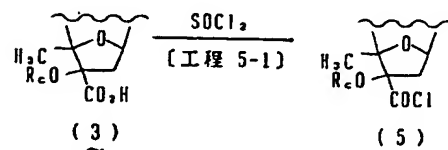


(式中、R₂はR、もしくは R, CO である)

〔工程3〕

K-252をアルカリ加水分解することにより、カルボキシル体〔I B〕を得る。反応は、メタノール、エタノールのようなアルコール類またはDMFに水を加えた混合溶媒中で、水酸化ナトリウムあるいは水酸化カリウムをK-252に対し1~1.5当量用いて行われる。反応は通常室温で行われ、数時間~1日で終了する。化合物〔I B〕から化合物(3)への変換は、前述した工程1または2に準じて行われる。

式〔I〕において、Rが水素でYの定義中R'が低級アルキルまたはアラルキルである化合物(4)は、次の工程により合成される。



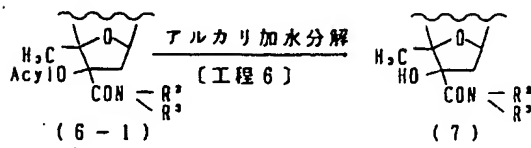
R, R^2, R^2 : 前記と同義

〔工程5〕

化合物(3)を塩化チオニル中加熱還流して、酸クロリド(5)を得ることができる(工程5-1)。ついで化合物(5)をアミン($HN \begin{smallmatrix} /R^2 \\ \backslash R^2 \end{smallmatrix}$)と反応させることにより、アミド体(6)を得ることができる(工程5-2)。工程5-2において、アミン成分は通常、化合物(5)に対し等量~過剰、通常1~5等量用い、反応溶媒として無水クロロホルム、ジクロロメタン等が用いられる。反応は通常室温で行われ、数時間で終了する。

式〔I〕において、Rが水素でYが $-N \begin{smallmatrix} /R^2 \\ \backslash R^2 \end{smallmatrix}$

(R^1 および R^2 は前記と同義である)である化合物(7)は次の工程により合成される。



〔工程6〕

R がアシルである化合物(6)(6-1)をアルカリ加水分解することにより、化合物(7)を得ることができる。反応はメタノール、エタノールのようなアルコール類に水を加えた混合溶媒中で、水酸化ナトリウムあるいは水酸化カリウムを化合物(6-1)に対し、1.5~3当量用いて行われる。反応は通常室温で行われ、数時間で終了する。

実施例

以下に本発明の実施例、実験例を示す。

7.03 (dd, 1H, $J=5, 7\text{Hz}$), 5.08 (s, 2H), 4.05 (s, 3H), 3.37 (dd, 1H, $J=7, 14\text{Hz}$), 3.13 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), ca. 2.20 (dd, 1H)

○MS m/z 481 (M^+)

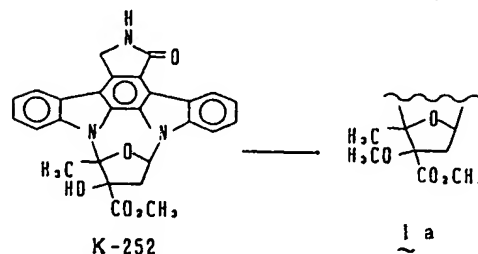
実験例2.

O-*n*-プロピル-メチルエステル体(1b)

実施例1と同様の方法で、K-252およびヨウ化*n*-プロピルより、白色結晶状の1bを得た。
○融点 244~246℃ (CH_2Cl_2 - CH_3OH)
○ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 9.47 (d, 1H, $J=8\text{Hz}$), 8.1~7.9 (m, 2H), 7.7~7.3 (m, 5H), 7.08 (dd, 1H, $J=5, 7\text{Hz}$), 5.11 (s, 2H), 4.04 (s, 3H), 3.55~3.25 (m, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.22 (dd, 1H, $J=5, 14\text{Hz}$), 1.26 (m, 2H), 0.44 (t, 3H, $J=7\text{Hz}$)
○MS m/z 509 (M^+)

実施例1.

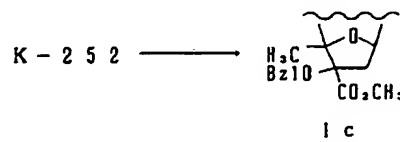
O-メチル-メチルエステル体(1a)



K-252, 184 mg (0.4 mmol) のDMF (2ml) 溶液を氷冷し、50%油性水素化ナトリウム19.2 mg (0.4 mmol) を加えた。20分後、ヨウ化メチル25 μL (0.4 mmol) を加え、さらに1時間攪拌した。反応混合物にクロロホルム20mlを加え、この溶液を水洗後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下に除去して得られた残渣を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム)により精製して、淡黄色粉末状の1a 65 mg (34%)を得た。
○融点 250~252℃ (CH_2Cl_2 - CH_3OH より再結晶)
○ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 9.42 (d, 1H, $J=8\text{Hz}$), 8.1~7.85 (m, 2H), 7.7~7.2 (m, 5H),

実施例3.

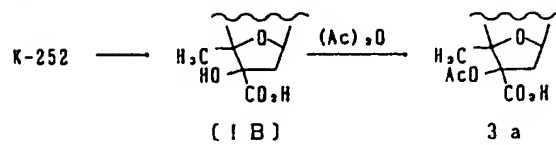
O-ベンジル-メチルエステル体(1c)



実施例1と同様の方法で、K-252および臭化ベンジルより、淡黄色粉末状の1cを得た。
○融点 176~178℃ (CH_2Cl_2 - CH_3OH)
○ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 9.42 (d, 1H, $J=8\text{Hz}$), 8.1~7.8 (m, 2H), 7.7~6.6 (m, 11H), 5.09 (s, 2H), 4.57 (d, 1H, $J=12\text{Hz}$), 4.16 (d, 1H, $J=12\text{Hz}$), 4.06 (s, 3H), 3.44 (dd, 1H, $J=7, 14\text{Hz}$), 2.31 (s, 3H), 2.27 (dd, 1H, $J=5, 14\text{Hz}$)
○MS m/z 558 ($M^+ + 1$)

実施例4.

O-アセチル-カルボン酸(3a)



K-252, 11.69 g (25 mmol) の DMF (40 ml) 溶液に、3 N 水酸化ナトリウム水溶液 10 ml を加え、室温で一晩攪拌した。反応混合物中の溶媒を減圧下に除去し、残渣に 1 N 塩酸 50 ml を加え攪拌した。不溶物を濾取し、1 N 塩酸、水、ついでメタノールで洗浄した。減圧下に乾燥して、淡黄色粉末状のカルボキシル体 (1 B) 9.83 g (87%) を得た。

化合物 (1 B) 4.53 g (10 mmol) の無水ピリジン (50 ml) 溶液に、無水酢酸 1.42 ml (15 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応混合物中の溶媒を減圧下に除去し、残渣に 1 N 塩酸 50 ml を加え攪拌した。不溶物を濾取し、1 N 塩酸、ついで水で洗浄した。減圧下に乾燥して、淡黄色粉末状の 3 a 4.79 g (97%) を得た。
○融点 267~270℃

○¹H-NMR (DMSO-d₆+CDCl₂) δ
9.36 (d, 1H, J=8Hz), 8.2~7.7 (m, 3H), 7.7~7.25 (m, 4H), 7.27 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 5.07 (s, 2H), 3.98 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 2.35 (s, 3H), 2.12 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 1.72 (s, 3H)
○IR (KBr) 3430, 1750, 1680, 1640, 159, 1460, 1235, 745 cm⁻¹

○IR (KBr) 3430, 1730, 1675, 1635, 1590, 1460, 745 cm⁻¹

実施例 6.

n-プロピルエステル体 (4 b)

実施例 5 と同様の方法で、化合物 (1 B) および 1-プロパノールより、淡黄色粉末状の 4 b 1.38 mg (56%) を得た。

○融点 173~178℃ (CH₃OH)
○¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 9.22 (d, 1H, 7.9Hz), 8.1~7.85 (m, 3H), 7.55~7.25 (m, 4H), 7.09 (dd, 1H, J=4.9, 7.3Hz), 5.04 (d, 1H, J=17.7Hz), 4.98 (d, 1H, J=17.7Hz), 4.30 (t, 2H, J=6.6Hz), 3.39 (dd, 1H, J=7.3, 13.9Hz), 2.17 (s, 3H), 2.04 (dd, 1H, J=4.9, 13.9Hz), 1.84 (m, 2H), 1.07 (t, 3H, J=7.4Hz)
○MS m/z 495 (M⁺)

実施例 7.

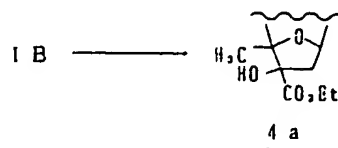
i-プロピルエステル体 (4 c)

実施例 5 と同様の方法で、化合物 (1 B) および 2-プロパノールより、淡黄色粉末状の 4 c 3.0 mg (12%) を得た。

○融点 186~190℃ (CH₃OH)

実施例 5.

エチルエステル体 (4 a)



化合物 (1 B) 227 mg (0.5 mmol) のエタノール (20 ml) 懸濁溶液に塩化チオニル 1 ml を加え、加熱還流した。2 時間および 4 時間後、さらに塩化チオニルを 1 ml ずつ加え、のべ 8 時間加熱還流した。反応混合物中の揮発性物質を減圧下に除去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により精製し、淡黄色粉末状の 4 a 160 mg (66%) を得た。
○融点 193~195℃ (アセトン-CH₃OH)

○¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 9.22 (d, 1H, J=7.6Hz), 8.1~7.85 (m, 3H), 7.55~7.25 (m, 4H), 7.11 (dd, 1H, J=4.9, 7.3Hz), 5.04 (d, 1H, J=17.7Hz), 4.98 (d, 1H, J=17.7Hz), 4.40 (m, 2H), 3.38 (dd, 1H, J=7.3, 13.9Hz), 2.17 (s, 3H), 2.02 (dd, 1H, J=4.9, 13.9Hz), 1.43 (t, 3H, J=7.1Hz)
○MS m/z 481 (M⁺)

○¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 9.22 (d, 1H, J=7.6Hz), 8.1~7.85 (m, 3H), 7.55~7.25 (m, 4H), 7.08 (dd, 1H, J=4.9, 7.3Hz), 5.19 (septet, 1H, J=6.3Hz), 5.04 (d, 1H, J=17.2Hz), 4.98 (d, 1H, J=17.2Hz), 2.18 (s, 3H), 2.01 (dd, 1H, J=4.9, 13.9Hz), 1.45 (d, 3H, J=6.2Hz), 1.41 (d, 3H, J=6.2Hz)

○MS m/z 495 (M⁺)

実施例 8.

n-ブチルエステル体 (4 d)

実施例 5 と同様の方法で、化合物 (1 B) および 1-ブタノールより、淡黄色粉末状の 4 d 152 mg (60%) を得た。

○融点 159~163℃ (アセトン-CH₃OH)
○¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 9.22 (d, 1H, J=7.9Hz), 8.1~7.85 (m, 3H), 7.55~7.25 (m, 4H), 7.08 (dd, 1H, J=4.9, 7.3Hz), 5.04 (d, 1H, J=17.8Hz), 4.98 (d, 1H, J=17.8Hz), 4.34 (t, 2H, J=6.5Hz), 3.38 (dd, 1H, J=7.3, 14.0Hz), 2.16 (s, 3H), 2.03 (dd, 1H, J=4.9, 14.0Hz), 1.81 (m, 2H), 1.51 (m, 2H), 1.01 (t, 3H, J=7.4Hz)

○MS m/z 509 (M⁺)

実施例9.

n-ヘキシルエステル体(4e)

実施例5と同様の方法で、化合物(1B)および1-ヘキサノールより、淡黄色粉末状の4e 179mg(67%)を得た。

○融点 145~147.5℃(CH₃OH)

○¹H-NMR(DMSO-d₆) δ 9.23(d, 1H, J=7.7Hz), 8.1~7.85(m, 3H), 7.55~7.25(m, 4H), 7.08(dd, 1H, J=4.9, 7.3Hz), 5.04(d, 1H, J=17.7Hz), 4.98(d, 1H, 17.7Hz), 4.33(m, 2H), 3.38(dd, 1H, J=7.3, 13.9Hz), 2.16(s, 3H), 2.04(dd, 1H, J=4.9, 13.9Hz), 1.81(m, 2H), 1.50(m, 2H), 1.45~1.3(m, 4H), 0.92(m, 3H)

実施例10.

ベンジルエステル体(4f)

実施例5と同様の方法で、化合物(1B)およびベンジルアルコールより、淡黄色粉末状の4f 58mg(21%)を得た。

○融点 255~257℃

○¹H-NMR(DMSO-d₆) δ 9.22(d, 1H, J=7.9Hz), 8.1~7.8(m, 3H), 7.65~7.25(m,

○¹H-NMR(DMSO-d₆+CDCl₃) δ 9.35(d, 1H, J=8Hz), 8.65~7.95(m, 3H), 7.8~7.3(m, 4H), 7.14(dd, 1H, J=5.7Hz), 5.06(s, 2H), 4.01(dd, 1H, J=7, 14Hz), 3.6~2.85(m, 2H), 2.30(s, 3H), 2.13(dd, 1H, J=5, 14Hz), ca. 1.95(m, 1H), 1.77(s, 3H), 1.00(d, 6H, J=7Hz)

○MS m/z 551(M⁺+1)

実施例12.

O-アセチル-アミド体(6b)

実施例11と同様の方法で、化合物5aおよび28%アンモニア水より、淡黄色粉末状の6b 50mg(40%)を得た。

○融点 266~268℃(CH₃OH)

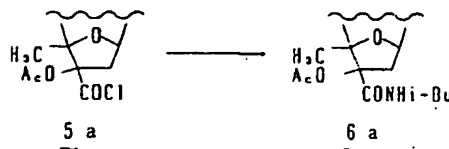
○¹H-NMR(DMSO-d₆+CDCl₃) δ 9.36(d, 1H, J=8Hz), 8.5~7.9(m, 3H), 7.9~7.3(m, 4H), 7.18(dd, 1H, J=5, 7Hz), 5.07(s, 2H), 4.03(dd, 1H, J=7, 14Hz), 2.38(s, 3H), 2.14(dd, 1H, J=5, 14Hz), 1.77(s, 3H)

○MS m/z 495(M⁺+1)

9H), 7.11(dd, 1H, J=4.9, 7.3Hz), 5.44(d, 1H, J=12.2Hz), 5.40(d, 1H, J=12.2Hz), 5.03(d, 1H, J=17.8Hz), 4.97(d, 1H, J=17.8Hz), 3.42(dd, 1H, J=7.3, 13.9Hz), 2.07(s, 3H), ca. 2.06(dd, 1H)

○MS m/z 544(M⁺+1)

実施例11.

O-アセチル-イソブチルアミド体(6a)

化合物5a 128mg(0.25mmol)の無水(P₂O₅)クロロホルム(5ml)溶液に、イソブチルアミン0.10ml(1.0mmol)を加え、室温で4時間攪拌した。反応混合物にTHF 40mlを加えて得られた溶液を1N塩酸、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下に除去した残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)で精製して、淡黄色粉末状の6a 56mg(41%)を得た。

○融点 215~217℃(CH₃OH)

実施例13.

O-アセチル-アニリド体(6c)

実施例11と同様の方法で、化合物5aおよびアニリンより、淡黄色粉末状の6c 78mg(55%)を得た。

○融点 252~255℃(CH₃OH)

○¹H-NMR(DMSO-d₆+CDCl₃) δ 9.35(d, 1H, J=8Hz), 8.52(m, 1H), 8.05(m, 1H), 7.8~7.1(m, 11H), 5.07(s, 2H), 4.07(dd, 1H, J=7, 14Hz), 2.39(s, 3H), 2.19(dd, 1H, J=5, 14Hz), 1.85(s, 3H)

○MS m/z 571(M⁺+1)

実施例14.

O-アセチル-ピペリジド体(6d)

実施例11と同様の方法で、化合物5aおよびピペリジンより、淡黄色粉末状の6d 71mg(50%)を得た。

○融点 235~238℃(CH₃OH-Et₂O)

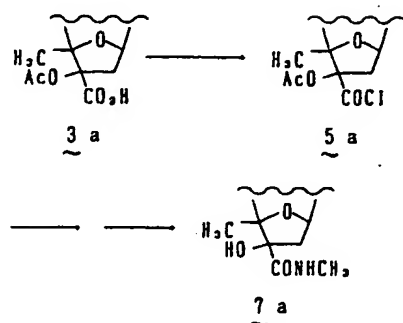
○¹H-NMR(DMSO-d₆+CDCl₃) δ 9.37(d, 1H, J=8Hz), 8.15~7.2(m, 7H), 7.08(dd, 1H, J=5, 7Hz), 5.07(s, 2H), 4.24(dd, 1H, J=7, 14Hz), 4.1~3.6(m, 4H), 2.34

(s, 3H), 2.10 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 1.95~1.5 (m, 6H), 1.65 (s, 3H)

○MS m/z 563 ($M^+ + 1$)

実施例15.

メチルアミド体 (7a)



化合物 (3a) 2.5 g の塩化チオニル (60 ml) 溶液を2時間加熱還流した。反応溶液中の塩化チオニルを減圧下に除去し、固体残渣にエチルエーテル40 mlを加え攪拌した。不溶物をろ取し、エチルエーテルで洗浄後、減圧下に乾燥して、淡黄色粉末状のO-アセチル-酸クロリド (5a) 2.29 g (88%)を得た。

化合物 (5a) 206 mg (0.4 mmol) の無水 (P_2O_5) クロロホルム (5 ml) 溶液に、30

%メチルアミン/メタノール0.5 mlを加え、室温で3時間攪拌した後、1N水酸化ナトリウム水溶液1 mlおよびメタノール5 mlを加え、さらに1時間攪拌した。反応混合物にTHF 70 mlを加えて得られた溶液を1N塩酸、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下に除去した残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) で精製して、淡黄色粉末状の (6a) 109 mg (58%)を得た。

○融点 261~263℃ (CH_3OH)

○ 1H -NMR ($DMSO-d_6$) δ 9.22 (d, 1H, J=7.9Hz), 8.1~7.8 (m, 3H), 7.55~7.25 (m, 4H), 7.04 (dd, 1H, J=4.7, 7.5Hz), 5.04 (d, 1H, J=17.5Hz), 4.97 (d, 1H, J=17.5Hz), 3.26 (dd, 1H, J=7.5, 13.6Hz), 2.81 (d, 3H, J=4.7Hz), 2.12 (s, 3H), 2.04 (dd, 1H, J=4.7, 13.6Hz)

○MS m/z 466 (M^+)

○IR (KBr) 3440, 1670, 1590, 1535, 1460, 745 cm^{-1}

実施例16.

エチルアミド体 (7b)

実施例15と同様の方法で、化合物5aおよびエチルアミン (エチルアミン塩酸塩、トリエチルアミン) より、淡黄色粉末状の7b 119 mg (62%)を得た。

○融点 238~240℃ (CH_3OH)

○ 1H -NMR ($DMSO-d_6 + CDCl_3$) δ 9.27 (d, 1H, J=8Hz), 8.1~7.9 (m, 2H), 7.8~7.2 (m, 5H), 7.05 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 5.06 (d, 1H, J=17Hz), 4.86 (d, 1H, J=17Hz), 3.7~3.15 (m, 3H), 2.32 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 2.23 (s, 3H), 1.32 (t, 3H, J=7Hz)

○MS m/z 481 ($M^+ + 1$)

実施例17.

n-プロピルアミド体 (7c)

実施例15と同様の方法で、化合物5aおよびn-プロピルアミンより、淡黄色粉末状の7c 115 mg (58%)を得た。

○融点 226~228℃ (CH_3OH)

○ 1H -NMR ($DMSO-d_6 + CDCl_3$) δ 9.11 (d, 1H, J=8Hz), 8.1~7.9 (m, 2H), 7.75

~7.1 (m, 5H), 7.00 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 4.98 (d, 1H, J=17Hz), 4.71 (d, 1H, J=17Hz), 3.65~3.15 (m, 3H), 2.58 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 2.20 (s, 3H), 1.73 (m, 2H), 1.07 (t, 3H, J=7Hz)

○MS m/z 495 ($M^+ + 1$)

実施例18.

2-ヒドロキシエチルアミド体 (7d)

実施例15と同様の方法で、化合物5aおよびエタノールアミンより、淡黄色粉末状の7d 118 mg (59%)を得た。

○融点 237~239℃ (CH_3OH)

○ 1H -NMR ($DMSO-d_6 + CDCl_3$) δ 9.29 (d, 1H, J=8Hz), 8.2~7.8 (m, 3H), 7.7~7.15 (m, 4H), 7.04 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 4.98 (br s, 2H), 3.9~3.45 (m, 4H), 3.31 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 2.29 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 2.23 (s, 3H)

○MS m/z 497 ($M^+ + 1$)

実施例19.

アニリド体 (7e)

実施例15と同様の方法で、化合物5aおよびア

ニリンより、淡黄色粉末状の7e 115mg (54%)を得た。

○融点 282~283℃ (CH₃OH)

○¹H-NMR (DMSO-d₆+CDCℓ₃) δ
9.27 (d, 1H, J=8Hz), 8.2~7.2 (m, 12H),
7.11 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 5.05 (d, 1H, J=17
Hz), 4.83 (d, 1H, J=17Hz), 3.41 (dd, 1H, J
=7, 14Hz), 2.50 (dd, 1H, J=5, 14Hz), 2.31
(s, 3H)

○MS m/z 529 (M⁺+1)

実施例20.

アミド体 (7f)

実施例15と同様の方法で、化合物5aおよび
28%アンモニア水より、淡黄色粉末状の7f
93mg (51%)を得た。

○融点 262~265℃ (CH₃CCℓ₃-CH₃OH)

○¹H-NMR (DMSO-d₆+CDCℓ₃) δ
9.30 (d, 1H, J=8Hz), 8.15~7.1 (m, 7H),
7.05 (dd, 1H, J=5, 7Hz), 4.99 (br s, 2H),
3.33 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 2.39 (dd, 1H, J=
5, 14Hz), 2.29 (s, 3H)

○MS m/z 453 (M⁺+1)

3.74 (br s, 3H), 3.63 (dd, 1H, J=7, 14Hz),
3.16 (br s, 3H), 2.50 (dd, 1H, J=5, 14Hz),
2.23 (s, 3H)

○MS m/z 481 (M⁺+1)

実施例23.

モルホリド体 (7i)

実施例15と同様の方法で、化合物5aおよびモ
ルホリンより、淡黄色粉末状の7i 97mg (46
%)を得た。

○融点 240~243℃ (CH₃OH)

○¹H-NMR (DMSO-d₆+CDCℓ₃) δ
9.18 (d, 1H, J=8Hz), 8.05~7.75 (m, 2H),
7.7~7.1 (m, 5H), 6.96 (dd, 1H, J=5, 7Hz),
4.84 (br s, 2H), 4.25~3.7 (m, 8H), 3.66
(dd, 1H, J=7, 14Hz), 2.54 (dd, 1H, J=5, 14
Hz), 2.25 (s, 3H)

○MS m/z 523 (M⁺+1)

実験例1.

本発明により得られた化合物のC-キナーゼ阻
害活性を、Y. Nishizuka et al. の方法 [J. Biol.
Chem., 257, 13341 (1982)] に準じて測定した。
試験化合物の濃度を変え、酵素活性を50%阻害
する化合物濃度 (IC₅₀) を求めた。結果を第1

実験例21.

N-ヒドロキシアミド体 (7g)

実施例15と同様の方法で、化合物5aおよびヒ
ドロキシルアミンより、淡黄色粉末状の7g 91
mg (49%)を得た。

○融点 259~263℃ (CH₃OH)

○¹H-NMR (DMSO-d₆+CDCℓ₃) δ
9.28 (d, 1H, J=8Hz), 8.15~7.8 (m, 2H),
7.7~7.15 (m, 5H), 7.06 (dd, 1H, J=5, 7Hz),
5.06 (d, 1H, J=17Hz), 4.86 (d, 1H, J=17Hz),
3.36 (dd, 1H, J=7, 14Hz), 2.33 (dd, 1H, J=
5, 14Hz), 2.26 (s, 3H)

○MS m/z 469 (M⁺+1)

実験例22.

ジメチルアミド体 (7h)

実施例15と同様の方法で、化合物5aおよびジ
メチルアミンより、淡黄色粉末状の7h 92mg
(48%)を得た。

○融点 235~236℃ (CH₃OH)

○¹H-NMR (DMSO-d₆+CDCℓ₃) δ
9.16 (d, 1H, J=8Hz), 8.1~7.8 (m, 2H), 7.7
~7.1 (m, 5H), 6.95 (dd, 1H, J=5, 7Hz),

表に示す。

第 1 表
合成化合物のC-キナーゼ阻害活性

| 化 合 物 | IC ₅₀ , ng/ml |
|-------|--------------------------|
| 1a | 50 |
| 3a | 13 |
| 4a | 50 |
| 6a | 4.4 |
| 6g | 5.0 |

実験例2.

本発明により得られた化合物のヒスタミン遊離
抑制作用を以下のようにして調べた。

体重150~180gのラットを乾エーテル麻
酔下に放血致死せしめ、Sullivanらの方法 [J.
Immunol., 114, 1473, (1975)] に準じて作成し
た肥満細胞用培養液 (mast cell medium) (MCM
と略記、組成: 150mM NaCl, 3.7mM
KCl, 3mM Na₂HPO₄, 3.5mM
KH₂PO₄, 1mM CaCl₂, 5.6mMグ

ルコース、0.1%牛血清アルブミン、10 U/mlヘパリン)、6 ml/animalを腹腔内に注入した。腹部を2分間マッサージした後、開腹し腹腔内渗出液を採取した。6匹より集めた浸出液を4℃、100×gで5分間遠心分離後、沈渣に適量の水冷MCMを加えて3回洗浄し、最終的には肥満細胞数が約 3×10^4 cells/mlとなるように細胞懸液(peritoneal exudate cells, PECと略記)を調製した。なお、肥満細胞の同定は0.05%トルジンプルーで細胞内顆粒を染色することにより行った。このようにして得たPEC 1 mlを37℃、10分間ブレインキューベートした後、種々の濃度の被検薬液0.1 mlを加えて10分間インキューベートし、フォスファチジル-L-セリン100 μg/ml及びコンカナバリンA 1000 μg/mlそれぞれ0.1 mlを加えてさらに15分間インキューベートした。氷冷した生理食塩水3 mlを加えて反応を停止後、4℃、1100×gで10分間遠心分離して上清と沈渣を得た。上清及び沈渣のヒスタミン量は小松の方法〔アレルギー 27, 67 (1978)〕に従い蛍光法で測定した。ヒスタミン遊離率は細胞の総ヒスタミン量に対する上清のヒスタミン量の百分率として表した。また次式により被検薬液のヒスタミン遊離抑制率を算出した。

$$\text{遊離抑制率 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{薬物存在下のヒスタミン遊離} - \text{自発遊離}}{\text{薬物不存在下のヒスタミン遊離} - \text{自発遊離}} \right) \times 100$$

試験化合物の濃度を変え、ヒスタミン遊離を50%抑制する化合物濃度(IC₅₀)を求めた。結果を第2表に示す。

第 2 表
合成化合物のヒスタミン遊離抑制作用

| 化 合 物 | IC ₅₀ , ng/ml |
|-------|--------------------------|
| 4 b | 290 |
| 6 f | 76 |

発 明 の 効 果

化合物〔1〕およびその塩は、C-キナーゼ阻害作用を有し、広く循環器系の疾病や炎症、アレルギー、腫瘍などの予防、治療に用いられる可能性を有する。

特許出願人 (102) 協和 醗 酵 工 業 株 式 有 限 公 司
代 表 者 加 藤 幹 夫



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.